

P83-2

IDENTIFICATION DE LA DIARRHÉE ÉPIDÉMIQUE PORCINE (D.E.P.) EN BRETAGNE

Étude clinique

P. VANNIER (1), P. DEBOUCK (2)

(1) *Ministère de l'Agriculture – Direction de la Qualité – Services Vétérinaires
Station de Pathologie Porcine – B.P. 9 – 22440 PLOUFRAGAN (France)*

(2) *Faculté de Médecine Vétérinaire – Laboratoire de Virologie
Casinoplein 24 – B-9000 GAND (Belgique)*

INTRODUCTION

Deux virus ont été spécifiquement associés à des troubles diarrhéiques chez le porc : le virus de la Gastro-entérite Transmissible (G.E.T.) (DOYLE et HUTCHINGS, 1946), et le Rotavirus (WOODE *et al.*, 1976). Si le rotavirus n'affecte que les jeunes porcelets allaités, le virus de la G.E.T. atteint les animaux de tout âge bien que, généralement, seuls les porcelets âgés de moins de trois semaines succombent à l'infection.

En 1976, des foyers d'un syndrome diarrhéique ont été observés en Grande-Bretagne (WOOD, 1977). Le tableau clinique des troubles diarrhéiques observés était très proche de celui de la G.E.T. bien que la mortalité des porcelets affectés par ce syndrome paraisse moins importante que dans le cas de la G.E.T. A cette époque, aucun agent étiologique n'avait pu être identifié. En 1977-1978 plusieurs foyers évoquant la G.E.T. étaient à nouveau signalés en Belgique. Le virus de la G.E.T. n'a pu être identifié et un virus « corona-like » était observé au microscope électronique (PENSAERT *et al.*, 1978). Ce virus n'a aucun caractère antigénique commun avec les deux coronavirus connus du porc, c'est-à-dire le virus de la G.E.T. et le virus de la maladie du vomissement et du dépérissement. Peu après, CHASEY et CARTWRIGHT, en Angleterre, observent ces particules virales dans les fèces et l'épithélium intestinal de porcelets présentant de la diarrhée sans que le virus de la G.E.T. ne puisse être incriminé (CHASEY et CARTWRIGHT, 1978).

Au cours de l'hiver 1981-1982, plusieurs cas de diarrhée ont été signalés en Bretagne et plus particulièrement dans les Côtes-du-Nord. D'emblée, ces différents foyers ont évolué cliniquement sous une forme différente de celle de la G.E.T. puisque les adultes étaient affectés par ces troubles diarrhéiques alors que les porcelets étaient peu ou pas malades. La mortalité chez les jeunes était faible ou nulle. Ce tableau clinique apparaissait donc très différent de celui de la G.E.T. et les premières recherches étiologiques se révélaient infructueuses. Des recherches plus approfondies ont alors été entreprises.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1) Les élevages – Études cliniques – Recherches étiologiques

9 élevages ont été retenus pour cette étude. Ces élevages sont situés dans les environs de Saint-Brieuc dans un rayon de 35 km à l'Est et à l'Ouest de cette ville. D'autres cas analogues ont été signalés en Bretagne, à la même époque, mais les prélèvements réalisés dans ces élevages

étaient insuffisants en nombre et en qualité pour pouvoir poser un diagnostic étiologique de certitude.

Parmi les 9 élevages cités précédemment (A à I), 8 étaient des élevages naisseurs-engraisseurs (A à H) et l'élevage I était un élevage engraisseur. Une étude clinique sommaire a été réalisée dans 5 élevages (E, F, G, H, I) alors qu'une analyse plus approfondie a été effectuée dans les deux élevages A et B.

Dans les 9 élevages cités, deux séries de prises de sang ont été faites à 15 jours d'intervalle sur les mêmes animaux. Le premier prélèvement de sang a été réalisé sur les animaux en phase aiguë de la maladie, c'est-à-dire qui présentaient une diarrhée profuse depuis moins de deux jours. Des truies, des porcelets sevrés ou des porcs charcutiers ont été prélevés. Dans tous les cas, les animaux ont été individuellement identifiés à l'aide d'une boucle numérotée fixée à l'oreille des truies ou d'encoches réalisées à l'oreille des porcelets sevrés ou des porcs charcutiers. Au moment de la prise de sang, des matières diarrhéiques étaient prélevées sur le même animal ; ces matières diarrhéiques ont été rapidement congelées après avoir été prélevées. 15 jours, 3 semaines après la première prise de sang, un deuxième prélèvement était réalisé sur les mêmes animaux.

2) Recherche des anticorps neutralisant le virus de la G.E.T.

Chaque sérum est dilué de 2 en 2 en microplaques à l'aide d'un microdiluteur. A chaque dilution, un volume égal (50 μ l) contenant 100 DCP₅₀ (dose cytopathogène) de la souche Purdue du virus de la G.E.T. est rajouté dans chaque cupule. Après une heure d'incubation à 37 °C, 150 μ l de cellules RPTG sont rajoutées dans chaque cupule à la concentration de 160 000 cellules par millilitre. La lecture définitive est réalisée 5 jours plus tard, l'absence d'effet cytopathogène attestant de la présence d'anticorps dans le sérum analysé à la dilution considérée.

3) Technique ELISA utilisée pour la détection de l'antigène du virus de la D.E.P.

Pour la détection de cet antigène par la méthode ELISA, la technique du « double sandwich » est utilisée. Elle est réalisée dans des microplaques à fond plat (Cooke microtiter M 129 B) en utilisant 100 μ l de réactifs par cupule. Une globuline anti CV 777 (PENSAERT *et al.*, 1978), diluée au 1/2000 est adsorbée sur le fond de la cupule ; cette globuline provient d'un sérum de porc hyperimmunisé. Les prélèvements analysés sont homogénéisés en agitant une heure à + 4 °C dans 4 volumes de tampon phosphate à pH 7,2 contenant 0,01 % de Tween 80. Les matières fécales ainsi traitées sont alors ajoutées dans les cupules où la globuline anti CV 777 a été préalablement adsorbée. La spécificité de la réaction est contrôlée par un test d'anticorps bloquants. Dans une première cupule, traitée comme précédemment, un sérum de porc de contrôle sans anticorps D.E.P. est rajouté à la dilution du 1/10 ; dans une seconde cupule, un sérum de porc anti CV 777 dilué au 1/10 est ajouté. La présence de l'antigène fixé sur la globuline spécifique est révélée par un sérum anti CV 777 conjugué à la peroxydase. Ce sérum conjugué est utilisé à la dilution du 1/600. La quantité du conjugué fixé, est révélée en rajoutant une solution contenant 1 mg/ml d'acide 5 – aminosalicylique, 0,005 % d'eau oxygénée, 1 mM Na₂EDTA et 0,01 M de phosphate de Sodium à un pH final de 6,0. Après une nuit d'incubation à 4 °C, la densité optique de chaque cupule est mesurée au spectrophotomètre avec un rayon lumineux de 450 nm de longueur d'onde (spectrophotomètre Multiskan des Laboratoires FLOW). Un prélèvement est considéré comme positif si la densité optique dans la cupule traitée avec le sérum de contrôle dépourvu d'anticorps D.E.P. est égale ou supérieure à celle obtenue avec une préparation standardisée d'antigène CV 777 diluée au 1/320ème et si la densité optique est diminuée de 50 % dans la cupule traitée avec le sérum de contrôle contenant les anticorps anti D.E.P. (CALLEBAUT *et al.*, 1982).

4) Technique ELISA utilisée pour la détection des anticorps anti CV 777

Les anticorps anti CV 777 sont recherchés dans les sérums analysés par un test ELISA d'anticorps bloquants réalisé dans les mêmes conditions que le test utilisé pour le contrôle de

spécificité de l'antigène CV 777. La même préparation de l'immunoglobuline anti CV 777, diluée au 1/500ème est utilisée pour l'adsorption sur les microplaques. Dans tous les tests, l'antigène employé est le virus CV 777 préparé dans des conditions standardisées, dilué au 1/20 dans du PBS additionné de 2,5 % de sérum de veau fœtal et de 0,05 % de Tween 80 (CALLEBAUT *et al.*, 1982). Les sérums analysés sont dilués de 2 en 2 en partant d'une dilution au 1/5 dans du PBS contenant 0,5 M de NaCl, 0,05 % de Tween 80 et 5 % de sérum de porc témoin dépourvu d'anticorps. Ils sont alors ajoutés aux microplaques sur lesquelles l'antigène a été fixé. Le diluant seul est utilisé comme témoin. Les microplaques sont incubées une heure à 37 °C, puis une nuit à + 4 °C avant que le conjugué ne soit ajouté. La dilution optimale de ce conjugué est le 1/600ème et elle est réalisée dans le même diluant que celui qui est utilisé pour les sérums à analyser. La quantité de conjugué fixée à chaque cupule est déterminée comme précédemment. Une dilution donnée du sérum à tester est considérée comme positive quand la densité optique est réduite d'au moins 50 % en comparant avec le tampon utilisé comme témoin. Les titres sont exprimés comme l'inverse de la dilution considérée comme positive.

RÉSULTATS

1) Recherches étiologiques

TABLEAU 1
DIAGNOSTIC ÉTIOLOGIQUE DE LA DIARRHÉE ÉPIDÉMIQUE PORCINE
DANS LES 9 ÉLEVAGES ÉTUDIÉS

| Élevages | | Séroconversion vis-à-vis du virus de la D.E.P. | Séroconversion vis-à-vis du virus de la G.E.T. | Présence de virus de la D.E.P. dans les fèces |
|------------------------|---|--|--|---|
| NAISSEURS-ENGRAISSEURS | A | 6/6* | 0/6* | 5/6** |
| | B | 5/8 | 0/8 | 5/5 |
| | C | 1/2 | 0/2 | Pas de prélèvement |
| | D | 1/3 | 0/3 | 1/1 |
| | E | 3/3 | 0/3 | 2/2 |
| | F | 2/2 | 0/2 | 1/1 |
| | G | 3/3 | 0/3 | 2/2 |
| | H | ND | ND | 6/6 |
| ENGRAIS-SEUR | I | 0/3 | 0/3 | 2/3 |

Légende : * $\frac{\text{Nombre d'animaux présentant une séroconversion}}{\text{Nombre d'animaux testés}}$

** $\frac{\text{Nombre de prélèvements positifs}}{\text{Nombre de prélèvements testés}}$

Comme l'indique le tableau 1, il n'y a pas eu de séroconversion vis-à-vis de la G.E.T. dans 8 des 9 élevages de l'enquête. Aucun anticorps anti D.E.P. n'a été décelé dans le premier prélèvement de sang réalisé, alors que des anticorps sont apparus dans pratiquement tous les sérums prélevés la seconde fois dans 7 élevages. L'intervalle relativement bref entre les deux séries de prises de sang (15 jours à 3 semaines) explique probablement le fait qu'une séroconversion n'a pas été observée chez tous les animaux prélevés. Dans l'élevage I les deux prélèvements de sang ont été réalisés à 13 jours d'intervalle or, il semble que les anticorps anti D.E.P. ne sont détectables dans le sérum des animaux infectés qu'après la quatrième semaine suivant l'infection (CALLEBAUT *et al.*, 1982). Le virus de la D.E.P. a été retrouvé dans presque tous les prélèvements de matières diarrhéiques réalisés lors de la première prise de sang pendant la phase aiguë de la maladie.

2) Étude clinique

Dans l'élevage A (élevage naisseur-engraisseur de 150 truies), la diarrhée a débuté en porcherie d'engraissement ; deux jours plus tard, les truies allaitantes manifestent une diarrhée liquide dont la couleur varie du brun au marron. Pratiquement en même temps, les truies gestantes sont malades. Une inappétence est constatée chez les truies dont la température rectale n'est pas modifiée. Certaines truies malades sont d'ailleurs en hypothermie (37 °C). En général, la diarrhée persiste 3 jours environ chez un adulte. La diarrhée est apparue chez les porcelets sevrés 7 jours après les premiers symptômes observés en porcherie d'engraissement. Au moment de l'apparition de la maladie, 20 portées de jeunes porcelets étaient présentes en maternité. De la diarrhée a été observée dans la moitié des portées environ sans qu'il ait été possible de connaître exactement le nombre de porcelets malades. 12 porcelets répartis dans 6 portées sont morts sur les 200 porcelets présents au moment de l'épisode infectieux (tableau 2). Une truie est morte 4 jours après la fin de la diarrhée et il n'est pas possible d'affirmer que les causes de cette mortalité soient en relation avec l'infection par le virus de la D.E.P.

TABLEAU 2

TABLEAU CLINIQUE SCHÉMATIQUE DANS 7 DES 9 ÉLEVAGES ÉTUDIÉS

| Élevages | | Diarrhée sur truies | Diarrhée sur porcelets | Diarrhée sur porcs charcutiers | Mortalité sur porcelets ou charcutiers |
|-----------------------|---|---------------------|------------------------|--------------------------------|--|
| NAISSEURS-ENGRASSEURS | A | + | + | + | 12 porcelets/200 présents |
| | B | + | + | + | 50 porcelets/450 présents |
| | E | + | - | + | 25 charcutiers/1430 présents |
| | F | + | ± | + | 0 |
| | G | + (2 truies) | - | + | 2 charcutiers |
| | H | + | - | + | 15 charcutiers |
| ENGRAISSEUR | I | / | / | + | 0 |

Comme dans le cas précédent, la diarrhée a débuté dans l'élevage B (élevage naisseur-engraisseur de 220 truies) en porcherie d'engraissement. La diarrhée observée est très liquide de jaune à brun ; 24 heures après l'apparition de la diarrhée sur quelques porcs charcutiers, elle se généralise dans la case entière puis affecte un ou deux porcs dans différentes cases de la porcherie.

Les jours suivants, le nombre d'animaux malades augmente et 5 à 6 jours après le début d'apparition des signes cliniques dans l'élevage, des troubles digestifs surviennent chez les truies gestantes. Cette diarrhée va persister dans les locaux de gestation et de maternité pendant plus de 15 jours, affectant les truies les unes après les autres, chaque truie ne présentant des signes digestifs que pendant 3 à 4 jours.

25 charcutiers (de 50 à 70 kg) vont succomber après l'épisode aigu en porcherie d'engraissement sur les 1 400 (de 30 à 100 kg) présents à ce moment. En fait, cette mortalité est survenue 2 à 3 jours après l'apparition de la diarrhée (le samedi). L'éleveur n'a pas prêté une grande attention à cette diarrhée le samedi et le dimanche et n'a pas augmenté la quantité d'eau distribuée aux porcs après le repas. Ce n'est que le lundi qu'il a réalisé l'importance du problème mais il était trop tard pour certains porcs qui, trop déshydratés, ont rapidement succombé.

La diarrhée est également apparue sur les jeunes porcelets au même moment que sur les truies allaitantes. Les porcelets de 15 à 16 portées sur les 50 présentes ont été atteints par la

diarrhée dans les 24 heures qui ont suivi la naissance. Parmi ces 16 portées, 50 à 60 porcelets sont morts des suites de la diarrhée. Or, dans cet élevage, des troubles digestifs pendant la période néonatale ont toujours existé et il est probable que ces problèmes aient compliqué le tableau clinique de la D.E.P. D'ailleurs, d'après l'éleveur, à la suite de l'évolution dans l'élevage de cette gastro-entérite contagieuse, ces diarrhées néonatales ont pris de l'ampleur en diminuant les performances de l'élevage et, en particulier, le nombre de porcelets sevrés.

Dans les autres élevages, l'évolution de la gastro-entérite virale a été similaire à celle qui a été décrite dans les élevages A et B. Cependant, des variations dans l'intensité des signes cliniques ont pu être observées dans les différents élevages. Dans l'élevage E aucune diarrhée n'a été constatée sur les jeunes porcelets alors qu'en un mois, pratiquement tous les porcs charcutiers et les truies de l'élevage ont été atteints. Aucune mortalité chez les adultes ou les jeunes porcelets n'a été enregistrée.

Comme dans l'élevage B, des problèmes de diarrhée néonatale ont toujours existé dans l'élevage F ; il semblerait cependant que la diarrhée observée sur les jeunes porcelets pendant l'évolution de la D.E.P. n'ait pas été plus importante qu'à l'accoutumée. Aucune mortalité n'a été constatée chez les jeunes porcelets ; par contre deux porcs charcutiers ont été trouvés morts un lundi matin alors que la diarrhée était apparue en porcherie d'engraissement à la fin de la semaine précédente ; comme dans l'élevage B, il n'y avait pas eu de distribution d'eau en dehors de l'eau apportée au moment des repas le samedi et le dimanche.

Dans l'élevage G, des porcs sont morts en porcherie d'engraissement (tableau 2) et ce, pour les mêmes raisons que celles qui ont été évoquées pour les élevages B et F. Dans cet élevage, il n'y a pas eu de diarrhée sur les jeunes porcelets, sans doute parce que l'infection s'est limitée à la porcherie d'engraissement et à deux truies gestantes dans le local de gestation. Ces deux truies étaient les plus proches de la porte du bâtiment. Les autres truies n'ont pas présenté de diarrhée et notamment les truies allaitantes.

Dans l'élevage H, tous les adultes (reproducteurs – charcutiers) ont été atteints. Les porcelets allaités n'ont pas présenté de diarrhée ; aucune mortalité n'a été constatée dans cet élevage. L'évolution de la D.E.P. dans l'élevage d'engraissement I ne diffère pas de celle qui a été décrite pour les élevages précédents. Aucune mortalité n'a été constatée chez les porcs charcutiers.

DISCUSSION

Les résultats des recherches de laboratoire indiquent sans aucun doute possible que les troubles digestifs observés dans les 9 élevages de l'enquête sont dus au virus de la D.E.P.

Dans les 9 cas étudiés, les signes cliniques sont très proches de ceux de la Gastro-entérite Transmissible (G.E.T.). Néanmoins, l'atteinte et la gravité de la maladie chez les porcelets n'est pas égale dans tous les élevages.

Plusieurs types de Gastro-Entérites virales, autres que la G.E.T., ont été décrits. La Diarrhée Épidémique (Epidemic Diarrhoea) de type I atteint uniquement les animaux âgés sans que les jeunes porcelets allaités ne soient malades et ne présentent de troubles diarrhéiques (ANON, 1972). A l'opposé, la diarrhée épidémique de type II affecte toutes les catégories d'animaux, quel que soit leur âge, la mortalité étant variable selon les élevages (WOOD, 1977). En fait, il a été montré que ces deux formes de diarrhée épidémique sont causées par un virus identique ou présentant des relations antigéniques croisées avec le coronavirus CV 777 (PENSAERT *et al.*, 1982). Le même virus serait donc responsable de deux formes assez différentes d'une gastro-entérite virale. Parmi les cas étudiés précédemment, de la diarrhée est apparue chez les porcelets allaités dans plus de la moitié des élevages ; il semblerait que l'intensité des signes cliniques observés et l'importance de la mortalité varient selon les élevages en fonction de certains paramètres difficiles à apprécier. Il est possible que la préexistence ou l'absence de troubles digestifs

de la période néonatale aient une influence sur l'évolution de la D.E.P. Il est cependant difficile de tirer une règle générale de ces quelques observations ; par exemple, alors que les troubles digestifs de la période néonatale semblaient préexister dans les élevages B et F, la mortalité et le nombre des porcelets affectés par la diarrhée ont été beaucoup plus importants dans l'élevage B.

La mortalité, parfois importante, observée en porcherie d'engraissement dans les élevages B, F et G est incontestablement liée à une insuffisance d'abreuvement au moment de l'apparition des troubles diarrhéiques dans l'élevage. Dans les 3 élevages, les circonstances de la mortalité sont très semblables puisque pratiquement tous les porcs charcutiers ont été trouvés morts un lundi, l'éleveur ayant constaté *a posteriori* que la diarrhée avait débuté à la fin de la semaine précédente. Dès que l'eau a été distribuée à volonté en porcherie d'engraissement aucun autre décès n'a été enregistré chez les porcs charcutiers.

CONCLUSION

De précédentes observations cliniques, non confirmées par des recherches de laboratoire avaient permis de suspecter l'existence de la Diarrhée Épidémique Porcine en France depuis quelques années. Cette étude prouve incontestablement que le coronavirus apparenté au CV 777 a, au cours de l'hiver 1981-1982, provoqué de nombreux cas de Gastro-entérites contagieuses en élevages porcins. Une enquête sérologique récente (DEBOUCK *et al.*, 1982) avait d'ailleurs montré que des anticorps D.E.P. étaient présents dans les sérums analysés provenant d'Allemagne, France, Bulgarie, Pays-Bas, Angleterre et Taïwan alors qu'aucun anticorps n'avait pu être décelé dans les sérums de Suède, Irlande du Nord, U.S.A. et d'Australie.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient vivement le Docteur GUILMOTO, Vétérinaire à la COOPERL (Lamballe) et le Docteur DOUCET, Vétérinaire à la S.I.C.A./C.A.F. pour la qualité des prélèvements qu'ils nous ont envoyés et les renseignements concernant certains élevages de la présente étude.

BIBLIOGRAPHIE

- ANON, 1972. Information Supplement – The Vet. Rec., **91**, 49.
- CALLEBAUT P., DEBOUCK P. et PENSAERT M., 1982. Vet. Microbiol., **7**, (à paraître).
- CHASEY D., CARTWRIGHT S.F., 1978. Res. Vet. Sci., **25**, 255-256.
- DEBOUCK P., CHALLEBAUT P., PENSAERT M.B., 1982. Prevalence of the Porcine Epidemic Diarrhea (PED) virus in the pig population of different countries. Proc. 7ème Congrès I.P.V.S., **53**.
- DOYLE L.P., HUTCHINGS L.M., 1946. J.A.V.M.A., **108**, 257-259.
- PENSAERT M.B., DEBOUCK P., DE ROOSE P., 1978. A virus isolated from an apparently new epizootic diarrhea in Swine. Proc. 5ème Congrès I.P.V.S., K.A. **9**.
- PENSAERT M.B., DEBOUCK P., 1978. Arch. of Virology, **58**, 243-247.
- PENSAERT M.B., CALLEBAUT P., DEBOUCK P., 1982. Porcine Epidemic Diarrhea (PED) caused by a coronavirus : Present knowledge. Proc. 7ème Congrès I.P.V.S., **52**.
- WOOD E.N., 1977. Vet. Rec., **100**, 243-244.
- WOOD E.N., BRIDGER J., HALL G.A. et coll., 1976. J. Med. Microbiol., **9**, 203-209.